

CM 208

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA

TESTE DE COOMBS DIRETO POSITIVO
INDUZIDO POR CEFALOSPORINAS

- MEDICINA -

FLORIANÓPOLIS
JUNHO DE 1990

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA

TESTE DE COOMBS DIRETO POSITIVO
INDUZIDO POR CEFALOSPORINAS

ROSILENE D'ALASCIO D'AMOREIRA
STELLA+MARIS TEIXEIRA

ORIENTADOR: Dr. GILMAR PACHECO

FLORIANÓPOLIS
JUNHO DE 1990

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Gilmar Pacheco, pe
la orientação e atenção dada na elaboraç
ção deste trabalho.

Aos funcionários do Serviç
ço de Hemoterapia do HU/UFSC.

- SUMÁRIO -

1- RESUMO.....	01
2- INTRODUÇÃO.....	02
3- MATERIAL E MÉTODO.....	05
4- RESULTADOS.....	07
5- DISCUSSÃO.....	09
6- COMENTÁRIOS.....	12
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	13

1 - RESUMO

As cefalosporinas são descritas como causadoras de reações adversas, dentre elas, a hematológica. Manifestada pela positividade do teste de Coombs direto (TCD), associada ou não a anemia hemolítica.

A literatura relata uma frequência de 3 a 75% de positividade. É citado como fator predisponente a dose, tempo de uso, azotemia e hipoalbuminemia.

O teste de Coombs foi escolhido por ser a melhor maneira de demonstrar a sensibilização das hemácias.

O objetivo do presente estudo é quantificar a frequência com que esta reação ocorre nos pacientes do Hospital Universitário durante o uso de cefalosporinas, e se possível correlacionar os citados critérios.

Verificou-se que em nenhum dos 41 pacientes selecionados houve a presença do TCD positivo ou anemia hemolítica. Independente do tipo de cefalosporina utilizada, dose ou tempo de uso.

2 - INTRODUÇÃO

As primeiras cefalosporinas foram descobertas no ano de 1948 por Brotzu na Sardenha⁽⁶⁾. São antibióticos empregados no tratamento de infecções por bactérias Gran-negativas e Gran-positivas. Eficazes em processos infecciosos do trato respiratório, pele e tecidos moles, ossos e articulações, trato urinário e corrente sanguínea. Também é empregada na profilaxia de infecções após procedimentos cirúrgicos.

Goodman e Gilman referem este fármaco como desencadeador de reações adversas semelhantes às das penicilinas, devido ao radical beta-lactâmico presente em ambas as formas estruturais destes antibióticos⁽⁶⁾. Levine em 1973 relatou reações cruzadas em 20% dos casos por ele analisados^(1,6). A reação do tipo imuno-alérgica é a mais comum, e frequentemente uma sensibilização das hemácias é detectada com soro anti-globulina. A anemia hemolítica pode estar associada, porém é um fenômeno raro^(1,2,6,14).

Existem dois mecanismos definidos pelos quais as cefalosporinas causam alterações na célula vermelha do paciente, positivando o teste anti-globulina direto com ou sem hemólise aparente. Um dos mecanismos admite que a droga adere-se firmemente à hemácia induzindo a formação de anticorpo. O ou-

tro mecanismo citado, refere que a adsorção da droga à célula altera sua membrana ocorrendo em seguida a absorção de proteínas não específicas^(7,10,12,13,16,17). Entre estas estão as globulinas beta e gama, e a albumina que determinam a positividade do teste antiglobulina^(10,12,16,17,19,20). Recentemente uma terceira hipótese admite a formação de anticorpo específico anti-cefalosporina reagindo contra a droga^(16,19).

O soro anti-globulina, preparado por Moreschi no ano de 1908, foi empregado pela primeira vez em imuno-hematologia por Coombs, Mourant e Race em 1945 e por Loutit e Molli^{lisson} em 1946⁽¹¹⁾. Na atualidade o teste antiglobulina, comumente citado como teste de Coombs (TC), é reconhecido e intitulado pelos imuno-hematologistas como o principal meio diagnóstico para evidenciar o auto ou iso-anticorpo anti-eritrocitário^(3,10,11), usado também no estudo com soros monoespecíficos onde é possível reconhecer imunoglobulinas, frações e fragmentos do complemento^(9,11). Portanto o teste de Coombs é a principal reação sorológica "in vitro" usada na demonstração dos mecanismos citados para a indução destas alterações hematológicas causada pelo uso das cefalosporinas.

O aparecimento de anemia hemolítica em enfermos tratados com cefalosporinas e sem causa aparente que justifique a hemólise, despertou o interesse dos estudiosos. Para confirmar a suspeita de anemia hemolítica induzida por droga, eles testaram as hemácias dos pacientes com teste de Coombs direto (TCD), procurando identificar a presença de anticorpo nas hemácias.

Os vários relatos mostram variável, porém significativo, número de TCD positivo sem evidência de hemólise^(3,5,7,13,14,20) e seis casos com anemia hemolítica durante o tratamento com cefalosporina^(8,18,19,21).

Considerações foram feitas durante estes estudos, analisando diferentes variáveis como: tipos de cefalosporinas usadas, doses, tempo de exposição à droga, presença ou não de disfunção renal e hipoalbuminemia.

O objetivo desta pesquisa é quantificar a positividade do TCD, associado ou não de anemia imuno-hemolítica induzida pelas cefalosporinas, nos pacientes internados no Hospital Universitário da UFSC (HU), em vigência de tratamento com estas drogas.

3 - MATERIAL E MÉTODO

Durante o período compreendido entre 30/03/90 a 12/06/90 realizou-se TCD com eritrócitos de 41 pacientes adultos, internados no HU da UFSC, em uso de cefalosporina por no mínimo sete dias.

A amostra inicial foi coletada para exame entre o primeiro e o terceiro dia da administração da droga. O teste foi repetido com espaço de tempo predeterminado (sétimo, décimo e décimo quinto dia de tratamento). Nos casos onde o tratamento prolongou-se por mais dias, prosseguiu-se a investigação através de exames semanais. Excluiu-se do estudo os pacientes que não atingiram um mínimo de sete dias de tratamento com cefalosporina.

Não houve discriminação dos pacientes selecionados quanto ao sexo, idade, cor ou indicação e dose terapêutica.

As amostras colhidas com EDTA, foram encaminhadas para o laboratório do serviço de Hemoterapia do HU, onde efetuaram-se os TCD.

A técnica utilizada foi a convencional (em tubos) nas temperaturas de 37° e 4°C com antiglobulina humana de amplo espectro (anti-gama e anti-não gama). Nas reações negativas procedeu-se a confirmação com hemácias de controle de

Coombs(4,15).

A função renal dos pacientes foi verificada com a dosagem da creatinina sérica.

4 - RESULTADOS

Dos 41 casos estudados todos tiveram o teste anti-globulina direto negativo, e não houve evidência clínica de hemólise nestes pacientes.

A tabela 01 mostra a distribuição dos fármacos nos pacientes analisados conforme as variações nas doses administradas e no tempo de uso.

TABELA - 01

CEFALOSPORINA	Nº de casos	Dose(g)		Tempo(dia)	
		MÍN	MÁX	MÍN	MÁX
Cefalotina	30	4	- 12	7	41
Cefalexina	6		2	7	12
Ceftazidime *	1	3	- 6	19	
Cefoxitina	2		6	7	29
Cefotaxima	2	3	- 8	16	27

FONTE - Enfermarias do HU/UFSC.

* O paciente usou doses diferente durante os 19 dias, 3g do 1º ao 8º dia e 6g do 9º ao 11º dia.

A creatinina sérica mostrou-se elevada em 3 pacientes durante o uso de cefalotina.

5 - DISCUSSÃO

A incidência relatada do teste anti-globulina positivo nos paciente recebendo cefalosporina tem variado largamente. Gralnick et al relata o TCD positivo em 8 de 20 pacientes (40%)⁽⁷⁾, Molthan et al refere uma incidência mais elevada (75%) em 31 pacientes⁽¹³⁾. Spath et al encontrou apenas 3,4% no total de 146 pacientes⁽²⁰⁾. O presente estudo, com 41 pacientes, não obteve resultados positivos.

Existem várias possibilidades para explicar esta discrepância. Primeiro, pela utilização, por parte da maioria dos autores, de soro de amplo espectro rico em anticorpo anti albumina, o qual reage com as albuminas ligadas às hemácias, após estas terem sido sensibilizadas pela droga^(3,7,13,21). Spath et al usou soro eluido que mostrou-se potente para anti corpo anti-IgG e anti-C₃, que não continha anti-albumina, diminuindo a frequência de positividade no TCD feito com eritró citos de pacientes em uso de cefalosporina. Comprovou ainda "in vitro" a presença de albumina ligada às hemácias sensibilizadas pela cefalosporina. Sugerindo um teste "anti-globulina" falso positivo quando usado um anti-soro rico em anticorpo anti-albumina⁽²⁰⁾. O que comprova o mecanismo de adsorção de proteínas não específicas desencadeador do TCD positi

vo, entretanto não desenvolvendo hemólise^(8,10,12,14,16,17,18 20,21).

Considera-se um contracenso a ausência de resultado positivo neste estudo, pois utilizou-se o soro anti-globulina de amplo espectro.

Outros autores demonstraram que um mecanismo imune pode também causar TCD positivo "in vivo" através de eluições dos eritrócitos do pacientes reagindo com eritrócitos sensibilizados por cefalotina e penicilina, o qual não seria possível na falta de antígeno apropriado^(8,18).

Em segundo lugar a seleção de pacientes com relação a patologia básica, a doses elevadas e a duração da terapêutica são considerado fatores predisponentes para a positividade das reações^(1,7,8,10,13).

Neste estudo não foi feito seleção de paciente por estes critérios. Considerou-se apenas um tempo mínimo de uso da droga, baseado na literatura, que diz ser precoce a positividade do teste, variando de 4 a 6 dias após instalado o tratamento^(7,8,14,17). A dose e o tempo variaram conforme a gravidade de cada caso, sem no entanto sensibilizar as hemácias dos pacientes (tabela-01).

Uma maior incidência também pode ser vista em centros referenciais ou unidades de doenças infecciosas, pois é também forma de seleção de pacientes. Isto é comprovado pela alta incidência de Gralnick et al⁽⁷⁾ e Malthan et al⁽¹³⁾ que analisaram apenas pacientes com doença renal.

Foord e Gralnick et al enfatizaram seus achados em azotêmicos e hipoalbuminêmicos, pois há redução da excreção renal, o que resulta em elevação do nível sérico da cefalosporina e decréscimo das ligações da albumina à droga no soro (normal 95%) em decorrência da hipoalbuminemia^(5,7).

O valor da albumina não foi pesquisado nos pacientes, e a creatinina sérica mostrou-se dentro dos padrões de normalidade em 92,6%, prejudicando a análise destes parâmetros como fatores predisponentes.

A literatura pesquisada cita cinco cefalosporinas relacionadas com o TCD positivo (cefalotina^(2,7,8,13,14,16,17), cefaloridina^(2,14,16,21), cefalexina^(8,16), cefazolina^(16,17) e ceftazidime⁽⁵⁾). A maior incidência foi observada em estudos seletivos com cefalotina^(7,13,18), e Foord obteve 4,7% com estudo exclusivo de ceftazidime⁽⁵⁾. A cefalexina foi considerada como causa, em um caso de anemia hemolítica com TCD positivo por Gralnick em 1971⁽⁸⁾.

O quadro de anemia hemolítica é comprovado pela existência de um mecanismo semelhante ao admitido para a penicilina, onde após adsorção da penicilina à membrana eritrocitária, ocorre alterações na estrutura proteica, determinando resposta imunológica, com formação de anticorpo e causando hemólise. Moake(1977) descreveu um paciente com história de hipersensibilidade à penicilina e que desenvolveu episódios de anemia hemolítica após administração de dois tipos diferentes de cefalosporinas, confirmada pela presença de eritrócitos recobertos pela cefalosporina⁽¹⁷⁾.

No presente estudo não foi questionado o uso ou reações prévias à penicilina nos pacientes.

6 - COMENTÁRIOS

A ausência de resultados positivos impossibilitou o alcance do objetivo do estudo.

Entretanto, a continuidade faz-se necessária com o intuito de comprovar a frequência da positividade do teste an tiglobulina direto durante a terapêutica com cefalosporina.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ALANIS, A., WEINSTEIN, A.J. Adverse reactions associated with the use of oral penicillins and cephalosporins. Med. Clin. North. Am., 67(1): 113-29, 1983.
- 2 - CLUFF, Leighton E. et alii. Clinical Problems with Drugs. Philadelphia, Leoyd H. Smith, 1975. 100 p. v.5.
- 3 - CROFT, J.D., SWISHER, S.N., GILLILAND, B.C. et alii. Coombs Test Positivity Induced by Drugs: Mechanisms of Immunologic Reactions and Red Cell Destruction. Ann. Intern. Med., 68: 176, 1968.
- 4 - DACIE, J.V. y LEWIS, S.M. Hematología Práctica. 3.ed. Barcelona, Toray, 1965. 193 p.
- 5 - FOORD, R.D. Ceftazidime: aspects of efficacy and tolerance. J. of Antimicrobial Chemotherapy, 12:399-403, 1983.
- 6 - GOODMAN, Alfred & GILMAN, Louis S. As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 6.ed. Rio de Janeiro, ed. Guanabara Koogan, 1983. 1008 p. v.2.
- 7 - GRALNICK, H.R., WRIGHT, I.D., MC GINNIS. Coombs Positive Reactions Associated with Sodium Cephalothin Therapy. JAMA, 199: 725-6, 1967.
- 8 - JEANNET, M., BLOCH, A., DAYER, J.M., FARQUET, J.J., GIRARD, J.P., CRUCHAUD, A. Cephalotin-Induced Immune Hemolytic Anemia. Acta Haemat., 55:109-17, 1976.
- 9 - KULKARNI, G.A., WAGNER, R.F. The Coombs Test and Autoimmune Hemolytic Anemia. JAMA, 294: 1564-65, 1983.
- 10 - LEAVELL, Byrd Stuart & THORUP, Oscar Andreas. Hematologia Clínica. 4.ed. Rio de Janeiro, ed. Interamericana, 1979. 163 p.

- 11 - MOLARO, G.L. Il test di Coombs Diretto Positivo: Interpretazione e significato clinico. Haematol, 66: 504-28, 1981.
- 12 - MOLLISON, P.L. Blood Transfusion in Clinical Medicine. 7. ed. Oxford, 1983. 460 p.
- 13 - MOLTHAN, L, REINDENBURG, M.M., EICHMAN, M.F. Positive Direct Coombs Test Due to Cephalothin. N. Engl. J. Med., 277: 123-25, 1967.
- 14 - OLIVEIRA, Halley Pacheco. Hematologia Clínica. 2.ed. Rio de Janeiro, liv. Atheneu, 1983. 207 p.
- 15 - PELLIZZA, S.M. et alii. Manual de Imuno-Hematologia. Rio de Janeiro, 1976. 28 p. v. 2.
- 16 - PETZ, L.D., GARRATY, G. Drug-Induced Haemolytic Anemia. Clin. Haematol., 4: 181-97, 1975.
- 17 - PETZ, L.D. Drug-Induced Immune Haemolytic Anaemia. Clin. Haematol, 9(3): 455-82, 1980.
- 18 - RUBIN, R.N., BURKA, E.R. Anti-Cephalothin Antibody and Coombs Positive Hemolytic Anemia. Ann. Inter. Med., 86: 64, 1977.
- 19 - SALAMA, A., GTTSCHKE, B., SCHLEIFFER, T., MUELLER-ECKHARDT, C. "Immune complex" mediated intravascular hemolysis due to IgM cephalosporin-dependent antibody. Transfusion, 27(6): 460-3, 1987.
- 20 - SPATH, P., GARRATTY, G., PETZ, L. Studies on the immune response to pellicillin and cephalothin in humans. J. Immunol., 107: 860-9, 1971.
- 21 - YORK, P.S., LANDES, R.R., SEAY, L.S., DANVILLE. Coombs Positive Reactions Associated with Cephaloridine Therapy JAMA, 206: 1086, 1968.

**TCC
UFSC
CM
0208**

Ex.1

N.Cham. TCC UFSC CM 0208

Autor: D' Amoreira, Rosil

Título: Teste de coombs direto positivo



972813364

Ac. 253398

Ex.1 UFSC BSCCSM